

細胞増殖因子の発現と局在に関する組織化学的研究

研究代表者	井関 尚一
雑誌名	平成7(1995)年度 科学研究費補助金 一般研究(C) 研究成果報告書
巻	1994-1995
ページ	5p.
報告年度	1996-03
研究課題番号	06670014
URL	http://doi.org/10.24517/00048960

KAKEN

1995

42

細胞増殖因子の発現と局在に関する組織化学的研究

(06670014)

平成7年度科学研究費補助金 (一般研究C)

研究成果報告書

平成8年3月

研究代表者 井関尚一
(金沢大学教授)



8000-45260-X

金沢大学附属図書館

研究組織

研究代表者： 井関尚一 （金沢大学医学部教授）
研究分担者： 山本美由紀（金沢大学医学部助手）
沼田雅行 （金沢大学医学部助手）

研究経費

平成6年度	1,300千円
平成7年度	800千円
計	2,100千円

研究発表

(1) 学会誌等

- 1) Amano O, Matsumoto K, Nakamura T, Iseki S (1994) Expression and localization of hepatocyte growth factor in rat submandibular gland. *Growth Factors* 10:145-151
- 2) Iseki S, Numata M (1994) Application of electron microscopic radioautography to in situ hybridization. In: *Radioautography in Medicine* (T. Nagata ed.), P.100-104, Shinshu University Press, Matsumoto
- 3) Iseki S, Amano O (1994) Expression of growth factors in rat submandibular gland as revealed by immunohistochemistry and in situ hybridization. In: *Radioautography in Medicine* (T. Nagata ed.), P. 148-152, Shinshu University Press, Matsumoto
- 4) Iseki S, Numata M (1994) Localization of neurofilament protein mRNA in rat trigeminal ganglion by in situ hybridization at light and electron microscopic levels. *Med Electron Microsc* 27:373-374
- 5) Yamamoto M, Sasaki H, Iseki S (1995) The occurrence of acidic fibroblast growth factor-like immunoreactivity in subpopulations of endocrine cells in the pancreas and intestine of the rat. *Arch Histol Cytol* 58:475-484
- 6) Ohta T, Yamamoto M, Numata M, Iseki S, Tsukioka Y, Miyashita T, Kayahara M, Nagakawa T, Miyazaki I, Nishikawa K, Yoshitake Y (1995) Expression of basic fibroblast growth factor and its receptor in human pancreatic carcinomas. *Brit J Cancer* 72:824-831
- 7) 発表予定
井関尚一 ラット顎下腺のイソプロテレノール刺激における血管内皮増殖因子の発現

(2) 口頭発表

1) Iseki S, Amano O, Matsumoto K, Nakamura T:

Expression and immunohistochemical localization of hepatocyte growth factor in the rat submandibular gland.

4th Joint Meeting of the Japan Society of Histochemistry and Cytochemistry and the Histochemical Society, Lahaina, Hawaii, July 13, 1994

2) 山本美由紀、井関尚一

胃・腸管・脾臓の内分泌系における a F G F の発現

日本解剖学会第100回総会（東京） 平成7年4月1日

3) 井関尚一

ラット顎下腺における血管内皮増殖因子（VEGF）の発現と局在

日本解剖学会第101回総会（福岡） 平成8年4月2日（発表予定）

研究成果

近年、種々の蛋白性の細胞増殖因子（成長）因子やその遺伝子が分離精製されたが、それらを産生する組織・細胞、また細胞内におけるそれらの局在にはまだ不明の点が多い。本研究ではラット全身における各種の増殖因子の発現・局在の部位を、組織・細胞レベルおよび細胞内レベルで明らかにすることを目的とした。このため増殖因子に対する抗体を用いた光顕および電顕的組織化学、また増殖因子のmRNAに対するDNAプローブを用いた遺伝子組織化学（in situ ハイブリダイゼーション法）を用いて研究を行い、以下の結果を得た。

まずラット顎下腺においてこれまで報告されたNGF、EGF、IGF-I、FGF、TGF- β 以外に新たに肝細胞増殖因子（HGF）が発現していること、その局在部位は顆粒性導管細胞の分泌顆粒であることがわかった（論文1、3）。これらの結果から、げっ歯類の顎下腺の顆粒性導管細胞が、種々の細胞増殖因子の一大産生拠点であることが確認された。

電子顕微鏡レベルの in situ ハイブリダイゼーション法の試みとして、ラット顎下腺の顆粒性導管細胞について、 ^{35}S でラベルしたEGFのプローブと反応後、包埋して超薄切片をつくり、電顕的オートラジオグラフィーで検出した。その結果、この方法はmRNAを発現する細胞の電顕による同定の目的には有効であるが、銀粒子の位置からmRNAの細胞内局在を検出する目的には不向きであることがわかった（論文2、4）。

酸性線維芽細胞増殖因子（aFGF）に対する特異抗体を用いた免疫組織化学によりラット消化器系を検索したところ、脾臓のランゲルハンス島の辺縁部の細胞と、十二指腸から結腸にかけての粘膜上皮に散在する細胞が免疫陽性であった。前者はグルカゴンを産生するA細胞であり、後者はグルカゴンと共通の前駆体から生成するグルカゴン様ペプチドを産生するL細胞であることがわかった。aFGFの免疫反応性はこれらの内分泌細胞の分泌顆粒内にみとめられた。この結果は、ラット消化器系においてグルカゴン前駆体を発現する内分泌細胞が特異的にaFGFを産生することを示した（論文5）。

本学第2外科との共同研究で、塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）およびその受容体に対する抗体を用いて32例のヒト脾導管由来の腺癌を免疫組織染色したところ、bFGF陽性の例、受容体陽性の例、および両者陽性の例があった。癌細胞の後腹膜への浸潤やリンパ節転移などで判断した癌の悪性度が高い症例ほど、受容体陽性の細胞の割合が高かった。この結果はヒト脾癌において癌細胞が産生するbFGFがオートクリン・パラクリン機構により癌の進展を助長している可能性を示唆した（論文6）。

血管増生および血管透過性上昇をおこすことで知られる血管内皮増殖因子（VEGF）のラット組織における発現と局在を、免疫組織化学およびIn situ ハイブリダイゼーション法で調べた。ラットの顎下腺は正常ではVEGFをわずしか発現しないが、動物にイソプロテレノールを投与して顎下腺腺房の増殖刺激を行うと、投与後約1時間をピークとした一過性の著しいVEGF発現の増加が示された。このときVEGFのmRNAおよび蛋白は腺房細胞に局在した。この結果は、顎下腺腺房細胞の増殖機構とVEGF産生との間に何らかの関係があることを示した（論文作成中）。

以上のように、本研究は、形態学的方法を用いて各種の細胞増殖因子の発現・局在部位を明らかにすることにより、増殖因子による生体機能調節のネットワークの解明に寄与した。